FACULTE DE MEDECINE
SAINT-LOUIS LARIBOISIERE
UNIVERSITE PARIS VII

ANNEE 1971

THESE

Nº 91

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Martine MORIN née WEILL

le 21 mars 1940 à CANNES LA BOCCA (06)

Ancienne Externe des Hôpitaux de PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : . . . . . .

RYTHME CIRCADIEN DE LA REPONSE BRONCHIQUE DE L'ADULTE SAIN ET DE L'ASTHMATIQUE AUX AEROSOLS D'ACETYLCHOLINE

Président : M. GAULTIER, Professeur

DITIONS MEDICALES ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

FACULTE DE MEDECINE
SAINT-LOUIS LARIBOISIERE
UNIVERSITE PARIS VII

ANNEE 1971

THESE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Martine MORIN née WEILL

le 21 mars 1940 à CANNES LA BOCCA (06)

Ancienne Externe des Hôpitaux de PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : . . . . . .

RYTHME CIRCADIEN DE LA REPONSE BRONCHIQUE DE L'ADULTE SAIN ET DE L'ASTHMATIQUE AUX AEROSOLS D'ACETYLCHOLINE

Président : M. GAULTIER, Professeur

EDITIONS MEDICALES EM ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A ma grand mère Madame Marcel WEILL

A mon Père
Mort pour la France en 1940

A ma Mère

A mon Mari

A mes Enfants

A ma Soeur

Au Docteur Francine MALLAT
Ma cousine et amie

A Monsieur Charles MORIN
Chef du Laboratoire des Essais à la
Pharmacie centrale des Hôpitaux de Paris
qui m'a aidée de son expérience de chimiste
dans le présent travail.

Au Docteur Jacqueline MORIN LORMAND

Un témoignage de la profonde
affection que je leur porte.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545908_0015

A Monsieur le Professeur Michel GAULTIER

Qui nous fait aujourd'hui l'honneur de présider cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur agrégé Pierre GERVAIS

A Monsieur le Docteur Alain REINBERG
Maître de recherche au CNRS.

Qui m'ont suggéré ce travail et initiée à l'allergologie et à la chronobiologie.

Ils m'ont fait participer au travail de l'équipe qu'ils animent en permettant la libre expression de la pensée et l'initiative individuelle ; ils y donnent comme caution leur savoir sans cesse renouvelé par leur curiosité scientifique.

La chaleureuse simplicité de leur accueil au sein de cette équipe renforce le désir d'honnêteté scientifique chez tous leurs collaborateurs et m'a rendu doublement formateur leur enseignement.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour la sollicitude et l'amitié qu'ils m'ont toujours témoignée.

A Monsieur le Professeur agrégé Pierre GERVAIS

A Monsieur le Docteur Alain REINBERG
Maître de recherche au CNRS.

Qui m'ont suggéré ce travail et initiée à l'allergologie et à la chronobiologie.

Ils m'ont fait participer au travail de l'équipe qu'ils animent en permettant la libre expression de la pensée et l'initiative individuelle ; ils y donnent comme caution leur savoir sans cesse renouvelé par leur curiosité scientifique.

La chaleureuse simplicité de leur accueil au sein de cette équipe renforce le désir d'honnêteté scientifique chez tous leurs collaborateurs et m'a rendu doublement formateur leur enseignement.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour la sollicitude et l'amitié qu'ils m'ont toujours témoignée.

A mes Maîtres des Hôpitaux de Paris.

Monsieur le Professeur M. BARIETY
Monsieur le Professeur J. PATEL
Monsieur le Professeur J. HAMBURGER
Monsieur le Professeur R. TURPIN.

C'est grâce aux stages faits dans leurs services que j'ai commencé à me familiariser avec le métier de médecin.

A mes Maîtres d'Externat.

Monsieur le Professeur J. BOURDIAL
Chez lui le Docteur J. FLIEDER a donné à tous ses externes, par sa bienveillance attentive et son sens didactique du geste et de la matière oto rhino laryngologique, un enseignement si bien adapté à notre inexpérience.

Monsieur le Docteur Ph. DETRIE
Chirurgien des Hôpitaux, ainsi que son assistant le Docteur COLLEN SOLAL et Monsieur le Professeur agrégé Cl. GILLOT.

Monsieur le Professeur agrégé C. ALBAHARY

Monsieur le Docteur CLAISSE
Médecin des Hôpitaux, qui a contribué à humaniser pour moi l'examen clinique des malades.

Monsieur le Professeur J. VIGNALOU
et Monsieur le Professeur agrégé P. BERTHAUX
chez qui il m'a été permis une première approche de l'endocrinologie et de la physiologie.

Monsieur le Docteur Ch. BACH
Médecin des Hôpitaux, chez qui grâce à l'attention qu'il portait à ses externes et la confiance qu'il faisait régner dans le service, m'a permis de bénéficier de l'expérience de son enseignement de la pédiatrie et de me familiariser avec l'examen des nourissons.

Ils m'ont dispensé un enseignement dont l'étendue et la valeur n'avaient d'égale que la rigueur scientifique.

A Monsieur le Professeur DEPARIS

et à Monsieur le Professeur agrégé MANIGAND

Qui ont su former autour d'eux des équipes profondément humaines et compétentes.

De leur sens aigu des relations humaines, de leur bonté profonde alliée à leur savoir étendu précis et efficace a découlé dans le service une harmonie propice au travail et au développement du sens clinique de leurs élèves.

Ils se sont mis à notre discrétion pour nous faire partager leur expérience médicale et renforcer par l'exemple notre sens de l'intégrité.

Qu'ils trouvent ici l'expression particulière de notre reconnaissance.

Je remercie Monsieur P. AUBIN, Directeur de la Fondation A. de Rothschild, qui a facilité mon travail.

Je remercie tous ceux qui ont bien voulu accepter de subir des épreuves fonctionnelles respiratoires répétées et qui constituent le groupe des sujets normaux et en particulier les membres du personnel médical et hospitalier du service d'Allergie Générale de la Fondation A. de Rothschild.

Le Docteur A. REINBERG
Le Docteur D. VIGNAUD
Madame SIMON
Mademoiselle A. NICOLAI
Madame ROYER
Monsieur O. REINBERG
Monsieur B. RACINE.

Je remercie le Docteur D. VIGNAUD, Médecin adjoint du service d'Allergie Générale, d'avoir bien voulu m'aider de ses conseils et de son expérience en allergie respiratoire.

Je remercie Mademoiselle le Docteur MASBOU d'avoir facilité mon travail par ses critiques et ses conseils en tant que spécialiste des E.F.R.

Je remercie le Professeur J.J. BERNIER et Mademoiselle VIDON, Maître de recherche à l'INSERM qui ont mis à notre disposition les moyens de calcul électronique de l'hôpital St. Lazare (Unité de recherche de l'INSERM. U. 54).

Je remercie Ch. ABULKER et J. DUPONT d'avoir bien voulu faire les analyses des séries temporelles de résultat. par la méthode du Cosinor.

Ce travail de recherche a été réalisé au Laboratoire de Physiologie de la Fondation A. de Rothschild (équipe de recherche de chronobiologie du CNRS n° 105) et du service d'Allergie Générale de la Fondation A. de Rothschild.

RYTHME CIRCADIEN DE LA REPONSE BRONCHIQUE DE L'ADULTE SAIN ET DE L'ASTHMATIQUE AUX AEROSOLS D'ACETYLCHOLINE

Recherches de chronopharmacologie humaine

INTRODUCTION

A - But du travail

Tiffeneau a montré (1-2), en normalisant les conditions de mesures, que l'asthmatique était beaucoup plus sensible aux aérosols d'acétylcholine (ACh) que le sujet normal.
De manière plus précise, la dose liminaire d'aérosol d'Ach capable de provoquer une chute de 15 % de la VEMS (Volume Expiratoire Maximum par seconde) est nettement plus petite chez l'asthmatique que chez le sujet sain. (3)

Cette découverte a conduit Tiffeneau à codifier une"épreuve à l'acétylcholine" ou "épreuve de Tiffeneau".

Les recherches de F. HALBERG et collaborateurs chez la souris (4-5), de L. SCHEVING et coll. chez le rat (6), celles de A. REINBERG et collaborateurs (8) chez l'homme ont montré qu'il existait des variations périodiques et prévisibles de sensibilité et de susceptibilité de l'organisme vis à vis de substances chimiques, médicamenteuses ou non, d'agents physiques etc. Dans le domaine des rythmes circadiens, c'est-à-dire des rythmes biologiques dont la période moyenne est d'environ 24 h. (9), plusieurs agents pharmacologiques ont été utilisés à dose fixe révélant des heures de moindre résistance.

En rapprochant les résultats obtenus d'une part par Tiffeneau et d'autre part par HALBERG, REINBERG, on était en droit de se demander s'il n'existait pas un rythme circadien de la réponse bronchique de l'organisme humain (sain et malade) à l'ACh en aérosols.

Ce travail est donc destiné à rechercher :

a/ d'un point de vue fondamental, l'existence d'un nouveau rythme circadien de susceptibilité pharmacologique chez l'Homme ;
b/ d'un point de vue pratique, à mieux connaître les limites des valeurs de l'épreuve à l'ACh considérées comme normales.

En outre, il n'est pas sans intérêt de mieux explorer le problème de la sensibilité à l'ACh chez les asthmatiques, compte tenu de l'importance que semblent avoir les récepteurs Beta adrénergiques dans la physiopathologie de l'asthme.

B - Remarques concernant l'épreuve de Tiffeneau

Cette épreuve est largement utilisée dans tous les services qui explorent les fonctions respiratoires ; c'est assez dire l'intérêt qu'elle présente. Certes, elle a été modifiée ou adaptée suivant les circonstances et les appareillages disponibles, dans le but de la rendre plus simple, plus reproductible, plus sensible, etc ...

L'aspect du problème que nous voulons discuter est que Tiffeneau, aussi bien que tous ses continuateurs, ont admis explicitement ou implicitement que la valeur obtenue était une sorte de constante caractéristique de l'état du sujet examiné. Tiffeneau précise même que le seuil à l'ACh n'était pas influencé par l'administration de substances telles que les corticoïdes, les méthoniums, les dépresseurs encéphaliques (morphine, phénobarbital, aspirine, chlorpromazine). (3-10)

On ne saurait critiquer l'oeuvre de Tiffeneau de ce point de vue, car au moment où il mettait au point son épreuve, la théorie de l'homéostasie était largement admise. On sait aujourd'hui qu'il s'agit d'une hypothèse de travail ; elle fut extrêmement féconde, mais elle ne rend plus compte de phénomènes tels que les variations circadiennes de susceptibilité et d'une manière générale, des rythmes biologiques.

Tiffeneau, comme la plupart des auteurs, a fait ses mesures sans tenir compte de l'heure de celles-ci, de la synchronisation des sujets, et d'une manière générale, de la structure temporelle de l'organisme. Il nous a suffi, lorsque nous avons entrepris ce travail, de comparer pour un même sujet, les mesures faites par exemple à 11 h. du

matin et à 23 h., pour constater que des différences, souvent très importantes, apparaissaient ; différences qu'il fallait expliquer autrement que par les erreurs de mesure, ou de manipulation.

C - Remarques concernant la chronobiologie et la chronopharmacologie.

Dans l'étude des biorythmes, le passage de l'histoire naturelle à la biologie quantitative n'a débuté que depuis une vingtaine d'années ; ce sont, en particulier, les méthodes de F. HALBERG, professeur à l'Université du Minnesota, qui permettent la réalisation d'une analyse suffisamment objective des résultats expérimentaux. Lorsque ces derniers ont été acquis en cours d'expériences respectant certaines règles élémentaires à l'étude des biorythmes.

La variation périodique d'un phénomène biologique peut être assimilée à une fonction sinusoïdale.

HALBERG (11) a mis au point des programmes spéciaux de calculs électroniques qui permettent d'obtenir la fonction sinusoïdale qui se rapproche le plus de la série temporelle des mesures expérimentales. On peut alors caractériser un rythme biologique (ou biorythme) par plusieurs de ces paramètres : sa période τ, son amplitude C, sa phase Φ , (par rapport à une origine déterminée), le niveau ajusté de C_0 , etc. La valeur estimée de chacun de ces paramètres est donnée avec ses limites de confiance pour une sécurité statistique convenable (95 %).

a/ La structure temporelle des organismes.

En se référant à la période dominante τ d'un biorythme (ou à son inverse la fréquence $1/\tau$) on peut effecuer une analyse spectrale des rythmes biologiques comme on effectue l'analyse spectrale d'un rayonnement lumineux. Des cycles dont la période est d'environ 24 h., ou d'environ 1 mois, ou d'environ 1 an, etc..., ont été mis en évidence pour certains métabolites hormonaux de l'homme adulte sain.

En analysant les rythmes de l'activité cardiaque, par exemple, on constate qu'il existe une périodicité d'environ une seconde, une autre périodicité d'environ 24 heures, et une périodicité d'environ un an. Un phénomène peut ainsi révéler des rythmes de périodes très diverses. Le spectre des rythmes biologiques a été partagé en trois grands domaines :

- Haute fréquence ($\tau \leq 0{,}5$ heure),
- Moyenne fréquence ($0{,}5$ heure $< \tau \leq 2{,}5$ jours) et
- basse fréquence ($\tau > 2{,}5$ jours).

C'est dans le domaine des rythmes de moyenne fréquence que se situent les rythmes circadiens dont la période est d'environ 24 heures. Ceux ci sont les plus étudiés et les mieux connus actuellement.

Les recherches modernes ont montré que les rythmes circadiens existent chez toutes les espèces végétales ou animales, y compris l'homme, et à tous les niveaux d'organisation. Ainsi, divers biorythmes circadiens, intéressant des variations morphologiques, chimiques ou physico-chimiques ont été mis en évidence pour de très nombreuses espèces d'organismes monocellulaires, végétaux ou animaux. Th. Vanden Driessche (12) a, par exemple, décrit des rythmes circadiens du métabolisme de l'acide ribonucléique (ARN), cytoplasmique chez une algue, l'Acetabularia. Il apparaît que chez ce végétal monocellulaire géant, le rythme circadien de l'A.R.N. cytoplasmique persiste lorsque le noyau a été retiré.

Une infinité de biorythmes (circadiens ou autres) ont été mis en évidence et analysés également à tous les niveaux d'organisation anatomo-physiologiques, de plantes supérieures, d'invertébrés, de vertébrés. Citons par exemple :

- au niveau cellulaire et sub-cellulaire, les rythmes circadiens intéressant les mitoses, le processus de synthèse des acides nucléiques, des phospholipides, des glucides, divers processus enzymatiques révélés par certaines particularités de leur métabolisme et cela pour les cellules nerveuses, hépatiques, rénales, cutanées, glandulaires, etc...
- au niveau des organes et systèmes d'organes : rythmes circadiens des sécrétions endocriniennes (hypothalamus, hypophyse, épiphyse, corticosurrénale, testicule, ovaire, etc...), rythmes circadiens des systèmes respiratoire , cardio-vasculaire, rénal, l'activité nerveuse supérieure (comportement, rythmes métaboliques, rythmes de l'activité électrique).
- enfin, au niveau de l'organisme entier : rythme thermique, rythme de l'alternance activité repos, rythme du poids corporel, etc...

Les rythmes circadiens que nous venons d'énumérer ont par définition une période d'environ 24 heures. Ils diffèrent cependant entre eux par leur amplitude et leur phase. Les variations d'amplitude peuvent être très importantes

(rythmes des excrétions urinaires du potassium) ou au contraire très faibles (rythme du potassium plasmatique). Le sommet de la variation circadienne peut servir de repère de phase, à partir d'une origine (arbitraire) qui peut être par exemple, minuit de l'heure locale. En étudiant comment se répartissent dans l'échelle des 24 heures les "sommets" des différentes variations cycliques, on constate qu'ils ne surgissent pas au hasard, mais au contraire, qu'ils se répartissent d'une manière organisée dans le temps. Autrement dit, il existe des relations de phase entre les différents rythmes. Certaines de ces relations sont à la fois causales et temporelles, par exemple, le sommet d'une sécrétion de l'hypophyse précède dans le temps le sommet de la sécrétion d'une glande endocrine périphérique physiologiquement dépendante de l'hypophyse. L'étude des relations temporelles des rythmes circadiens conduit à la description de la structure temporelle des organismes et, en particulier de celle de l'homme. Il convient d'ajouter qu'une description de même type est réalisable dans chacun des différents domaines du spectre biologique. Cette connaissance vient compléter celle que nous avons de la structure spatiale des organismes. Elle nous est donnée par la morphologie, par l'anatomie macroscopique et microscopique. Il est aujourd'hui possible d'analyser la structure temporelle d'un animal ou d'un végétal et de pousser très loin cette analyse à l'aide de calculateurs électroniques.

Alors que le biologiste classique essaie de préciser où (dans quelle structure anatomique), et comment (par quelle réaction originale , physicochimique entre autres), un phénomène biologique se déroule le chronobiologiste cherche à dire quand il est présent ou absent, quand il est à son maximum ou à son minimum, bref, il tente de situer le phénomène dans la structure temporelle de l'organisme.
Par l'étude objective des biorythmes on introduit donc une dimension nouvelle en biologie quantitative. La réponse à la question"quand"ne peut être dissociée des questions"où" et"comment".
Autrement dit, loin de s'opposer, les structures spatiales et temporelles de l'organisme sont au contraire complémentaires. Mais, négliger la structure temporelle, ce serait se priver d'une dimension indispensable pour comprendre les phénomènes du monde vivant.

Nous sommes bien obligés d'admettre actuellement que l'activité rythmique constitue une des propriétés fondamentales de la matière vivante.

b/ Les synchroniseurs de l'ambiance.

De très nombreux travaux (Bünning (13), Halberg (4), Pittendrigh, Aschoff, Reinberg (14) etc...) donnent à penser que la structure temporelle d'un organisme appartient à son patrimoine génétique. On ne peut plus en effet admettre qu'un rythme biologique soit acquis par chaque individu à chaque génération. La structure temporelle d'un organisme est héréditaire comme l'est sa structure anatomique. Cependant, certaines variations cycliques de l'ambiance sont capables de modifier la période, l'amplitude ou la phase des biorythmes, ce sont des synchroniseurs. L'alternance du jour et de la nuit, de la lumière et de l'obscurité, et dans une certaine mesure, celle du bruit et du silence, du chaud et du froid suivant une période de 24 heures (ou voisine de 24 heures), ont une action synchronisatrice pour les rythmes circadiens de nombreuses espèces animales. Le synchroniseur le plus puissant pour l'homme paraît être de nature socio-écologique ; les impératifs horaires qui commandent l'alternance de notre repos et de notre activité (suivant une période moyenne de 24 heures), ont une action synchronisatrice qui a été mise en évidence expérimentalement. Les synchronisateurs de l'ambiance ne peuvent donc pas créer des rythmes, mais ils sont capables d'influencer certains des paramètres qui caractérisent ces derniers. Lorsqu'on modifie la phase des synchroniseurs socio-écologiques, comme cela se passe lors d'un travail de nuit, à poste fixe, ou lors des vols intercontinentaux à longue distance (15), on observe une désynchronisation des biorythmes. Cela signifie que, pendant un certain nombre de jours, ou même de semaines, chez les sujets ainsi désynchronisés de leur ambiance coutumière, les sommets circadiens des différentes fonctions physiologiques se situent, dans le temps, à une place qui ne leur est pas habituelle. La structure temporelle normale de l'organisme peut s'en trouver altérée de façon plus ou moins intense et plus ou moins prolongée. On conçoit que ces perturbations puissent avoir pour conséquence des modifications des performances habituelles de l'individu, et sans doute aussi, à plus longue échéance, des altérations de sa santé. On peut aussi, à titre expérimental, soustraire des hommes ou des femmes en bonne santé de l'action des synchroniseurs connus de l'ambiance.

Lorsqu'on veut réaliser une expérience de chronobiologie il est indispensable de contrôler, ou tout au moins de savoir aussi précisément que possible, de quelle manière les sujets de l'expérience sont synchronisés. Chez l'homme, par exemple, il est indispensable de connaître les heures

habituelles de coucher et d'éveil, pendant la ou les semaines qui ont précédé l'expérience. Tout travail sur les rythmes biologiques qui ne donne pas aux lecteurs ces informations élémentaires et indispensables est en fait dépourvu de toute valeur scientifique, puisque les résultats qu'il apporte sont ininterprétables. C'est là un point de méthodologie fondamentale. (17,18,19)

c/ Les perspectives de recherches et d'application de la chronobiologie.

La chronobiologie (16,17), c'est-à-dire l'étude quantitative et objective des rythmes biologiques conduisant à l'analyse de la structure temporelle des organismes, comprend déjà diverses branches. Certains des faits expérimentaux que nous avons signalés peuvent se classer dans la chronophysiologie. La chronotoxicologie, la chronopharmacologie et la chronopathologie, constituent autant de nouvelles voies de recherche. (18)

La chronotoxicologie est née d'observations assez bouleversantes. Les effets toxiques d'une drogue active (utilisée à doses égales et dans des conditions comparables) varient d'une manière prévisible en fonction de l'heure de son administration. La même dose de poison qui, à une certaine heure, sera mortelle dans 80 % des cas, laissera au contraire 80 % de chances de survie si elle est administrée 12 heures plus tard ou 12 heures plus tôt (19). On sait aussi aujourd'hui que certains effets des médicaments que nous utilisons dépendent de la structure temporelle de l'organisme. Autrement dit, un médicament peut avoir une action plus intense ou, au contraire, négligeable, suivant l'heure à laquelle il a été administré. En quelques années, les exemples permettant d'illustrer ces faits fondamentaux se sont multipliés de manière remarquable. Des effets chronopharmacologiques ont également été rapportés, en ce qui concerne l'homme, vis à vis de substances telles que les antihistaminiques, l'acide salicylique, divers corticostéroïdes, etc... (19,20,21,22)

Signalons ici que la variation circadienne de la sensibilité de l'organisme vis à vis des effets toxiques de substances chimiques n'est qu'un aspect d'un phénomène beaucoup plus général : la variation de résistance aux agressions de toute nature en fonction de l'heure. Il existe en effet un rythme circadien de la résistance de l'organisme vis à vis des effets nocifs du bruit, des rayons X, des infections, etc... (19)

SUJETS - MATERIEL - METHODES

I - SUJETS SAINS EN APPARENCE

Le choix -

Huit volontaires adultes, médecins et personnel du service. Ils ont été choisis sur les critères suivants :
- absence de manifestation allergique clinique respiratoire,
- absence d'infection pulmonaire (auscultation - cliché thoracique - VS - hémogrammes normaux).

Les informations concernant le sexe, l'âge, la taille, le poids, le mois de l'épreuve et l'ordre de l'épreuve sont consignés au tableau n° 1.

Les sujets étaient tous fumeurs (environ 20 cigarettes par jour) ou anciens fumeurs, car les examens pratiqués sur huit sujets jeunes (24 à 34 ans), non fumeurs (1 seul de 23 ans - fumait un paquet par jour), ont révélé qu'ils atteignaient un seuil supérieur à 15.000 microgrammes. Ce seuil pouvait atteindre 30.000 microgrammes.

Ceci était incompatible avec une bonne précision de l'épreuve, les sujets étant obligés d'inhaler plus de 15 litres de l'aérosol d'ACh, la durée de l'inhalation excédant alors 3 minutes.

Or, l'ACh est très fragile ; dès son introduction dans l'organisme elle est détruite par hydrolyse cholinestérasique. Tiffeneau note déjà les résultats suivants : "Le processus d'hydrolyse cholinostérasique semble très actif dans le poumon ; chez le chien, l'ACh administrée par voie aérienne sous forme d'aérosols est détruite avant de se résorber dans la circulation pulmonaire : les effets vasodilatateurs généraux (hypotension) de l'ACh ne se produisent pas, sauf si l'animal a préalablement inhalé un aérosol

Sujets sains

Tableau n° 1

Hommes n° du sujet	âge en années	taille en m.	poids en kg.	mois de l'épreuve	ordre de l'épreuve
1	21	1,73	60	avril mai 1970	19 - 8 - 15 23
2	21	1,78	72	mai juin 1970	8 - 15 - 23 19
3	44	1,78	76	oct. nov. 1970	8 - 19 - 23 15
4	48	1,71	85	mai 1970	19 - 8 - 15 23
Femmes					
5	28	1,63	50	avril mai 1970	19 - 23 - 15 8
6	30	1,63	52	avril mai 1970	15 - 19 - 8 23
7	37	1,63	61	mai 1970	19 - 8 - 23 15
8	47	1,63	54	nov. dec. 1970	23 - 8 - 15 19

d'ésérine qui inhibe les cholinestérases et empêche leur action hydrolysante".

La prolongation de l'inhalation nécessaire pour une forte dose se serait accompagnée d'une destruction concomitante de l'ACh et aurait abouti à une erreur par défaut.

Le problème de la sommation des effets lorsqu'une dose importante est utilisée se serait également posé.

II - LES ASTHMATIQUES.

Ils ont été choisis parmi ceux qui présentaient un asthme récent (asthmatiques depuis 1 à 6 ans) et pur, sans complications cardiovasculaires ni emphysèmes pulmonaire ;il s'agissait d'asthme extrinsèque pour cinq d'entre eux.

Ces malades étaient hospitalisés en milieu hypoallergénique et ne recevaient plus de corticoïdes depuis au moins quatre jours.

Les seuls médicaments admis en cours d'épreuve étaient : un antibiotique (TAo) ou de la théophylline.

Parfois des tests ont été pratiqués en cours d'épreuve mais jamais de désensibilisation.

Chez ces asthmatiques les épreuves fonctionnelles courantes n'étaient pas trop perturbées, en particulier VEMS supérieure à 1,35 l pour les femmes et à 2,7 litres pour les hommes et CV supérieure à 2 litres pour les femmes et 4,50 litres pour les hommes.

Un seul de ces sujets était fumeur (un paquet par jour - sujet n° 12).

Les renseignements concernant l'âge, le sexe, l'ancienneté et le type de l'asthme, la positivité des tests; le traitement pendant l'épreuve, la date d'arrêt des corticoïdes, la fréquence et l'intensité des crises avant l'hospitalisation, leurs variations diurnes et saisonnières, sont consignés au tableau n° 2.

La radio thoracique, la formule sanguine, les électrolytes ne montraient que des altérations négligeables.

ASTHMATIQUE - Tableau N° 2

N°	Age en années	sexe	Asthme -ancienneté -intrinsèque:I -extrinsèque:E	Tests positifs pour	Tt pendant épreuve T (Théophylline) TAO	Corticoïdes = 0 arrêté depuis x jours avant la 1ère épreuve	crises avant hospitalisation *		Variation	
							fréquence	intensité	diurne nocturne	saisonnière
11	27	M	depuis 2 ans E.	poussière 1/500.000 plume 1/50.000 anatoxine Staphilo $\frac{1}{100}$ divasta $\frac{1}{100}$ graminées 1/100.000 Weeds + arbres ++	TAo 6c/j. T 1c/j.	5	1/sem.	+++	nocturne	0
12	35	M	depuis 1an E	plume (1/50.000) VA Staphilo 1/100 VA strepto +++ Trychophy ++ graminées 1/10.000	TAo 4c/j	5	1/j.	+++	matin et soir	+ printemps hiver
13	11	F	depuis 1 an I	coli 1/100 proteus	0	0	1/sem.	++	soir	0
14	40	F	depuis 2 ans E + bronchites	coli 1/100 proteus	TAo 6c/j	5	rares	++	matin et soir	++ au changement de saison
15	43	F	depuis 1 an E	strepto 1/100 + divasta 1/100 ±	TAo 6c/j.	4	sub. intrantes	+++ état de mal asthmati.	nuit et jour	0
16	56	F	depuis 6 ans E bronchites	Aspirine Pénicilline	0	8	sub-intrantes	++++	nuit et jour	0

* Pendant l'hospitalisation en chambre hypoallergénique, les crises dyspnéiques diminuent en fréquence et en intensité ou disparaissent même totalement sans thérapeutique médicamenteuse.

Standardisation des sujets pour l'étude de leurs rythmes circadiens.

Sujets sains et asthmatiques ont été soumis à des heures de veille et de sommeil sensiblement identiques. En effet, une semaine avant le début de l'épreuve et pendant toute la durée de celle-ci, ils se couchent à
- environ 23 heures et s'éveillent à
- environ 7 heures. Une tolérance de $\pm$ 15 minutes par rapport à ces heures moyennes est admissible.

Pour faciliter l'éxécution de cette mesure indispensable, les sujets sains ont conservé leur activité diurne habituelle, et tous les malades étaient hospitalisés mais sans obligation de rester couché dans la journée.

Conditions de mesure.

Pour des questions de commodité, nous avons choisi de pratiquer l'épreuve aux heures suivantes : 8 h. - 15 h. - 19 h. - 23 h. après une mesure préliminaire d'un seuil de référence.

Ces quatre mesures nous permettent de respecter le sommeil nocturne des malades tout en couvrant de manière relativement satisfaisante les heures de veille.

Le choix de ces heures fixes d'épreuve est rendu possible puisque les résultats expérimentaux obtenus sont analysés par la méthode du Cosinor qui permet, entre autre, d'analyser un rythme circadien lorsque les informations sont recueillies à intervalle de temps inégaux et qu'elles sont peu nombreuses.
- Le programme de la répartition des épreuves était :
  - de 1 mesure par semaine chez les sujets sains,
  - de 1 mesure par jour au maximum pour les asthmatiques.
- L'ordre des mesures était différent pour chacun des sujets (cf. tableau n° 3) de manière à ne pas introduire une erreur systématique.

Nous ignorons en effet dans quelle mesure une première épreuve retentit ou non sur les résultats des épreuves suivantes (phénomènes de sommation). On peut en effet supposer que les effets de l'ACh ne se dissipent pas dans les heures qui suivent l'épreuve malgré l'emploi systématique de l'aleudrine et bien qu'il soit admis que l'effet de l'ACh est spontanément et rapidement réversible.

sujets sains	1ère mesure	2ème mesure	3ème mesure	4ème mesure	seuil moyen en µg d'ACh
1	19 h	8 h	15 h	23 h	7.000
2	8 h	15 h	23 h	19 h	14.875
3	8 h	19 h	23 h	15 h	5.125
4	19 h	8 h	15 h	23 h	2.750
5	19 h	23 h	15 h	8 h	8.525
6	8 h	19 h	15 h	23 h	5.125
7	19 h	8 h	23 h	15 h	3.200
8	23 h	8 h	15 h	19 h	5.075
asthmatiques					
11	19 h	15 h	8 h	23 h	350
12	8 h	23 h	19 h	15 h	687
13	15 h	19 h	8 h	23 h	675
14	15 h	8 h	23 h	19 h	525
15	15 h	23 h	8 h	19 h	125
16	19 h	23 h	8 h	15 h	30

Ordre des mesures

Tableau n° 3

En changeant systématiquement l'ordre des épreuves et en respectant un intervalle de 1 à 8 jours entre chacune d'elles, nous pensons nous être mis à l'abri de critiques majeures concernant un retentissement secondaire d'une mesure sur la suivante.

De plus, nous avons pris soin de vérifier chez plusieurs sujets la validité d'une ou de plusieurs mesures par sa répétition. Ainsi chaque sujet a été soumis au moins à 5 épreuves à l'ACh.

METHODES DE MESURE

I - PRINCIPE

Il s'agit de mesurer, dans des conditions standardisées, la dose à partir de laquelle l'inhalation d'ACh provoque une altération objective, (enregistrable) de certaines fonctions respiratoires chez l'homme.

D'après Tiffeneau la sensibilité pulmonaire à l'ACh se mesure en déterminant la plus petite dose d'ACh - dite dose liminaire - qui, administrée par voie aérienne sous forme d'aérosol, est capable de produire un effet ventilatoire spirographiquement tangible. (1-3)

Pour déterminer cette dose liminaire, ou seuil à l'ACh, nous avons été amenés pour tous les sujets à pratiquer une mesure préliminaire. Ce seuil de référence permet de gagner du temps lors de mesures ultérieures.

Sa détermination est longue car l'on doit commencer à des doses faibles, même chez le sujet sain, chez qui on évite de cette façon un accident lié à une broncho-motricité excessive qui serait passée inaperçue.

Conduite de l'épreuve :
chez le sujet sain les mesures sont faites par paliers successifs de 100 à 500 µg.
chez l'asthmatique les mesures sont faites de 10 en 10 microgrammes jusqu'à 100,
- puis de 50 en 50 jusqu'à 1000 microgrammes
- ou de 20 en 20, suivant les renseignements cliniques.

L'intérêt de la détermination de ce seuil préliminaire est multiple.

I - C'est pour le sujet un apprentissage à l'éxécution des mouvements respiratoires.

2 - Les mesures suivantes, en particulier pour les sujets sains, auront une durée réduite. En effet, on pourra alors commencer l'épreuve à des doses plus élevées d'ACh ou du moins augmenter plus rapidement les doses en tenant compte de ce seuil de référence.

3 - Il s'ensuit donc une diminution de la fatigue du sujet, ce qui facilite l'appréciation d'un seuil ultérieur en éliminant cette cause d'erreur.

4 - Enfin, l'émotivité des sujets qui se manifeste chez les malades au premier examen est ainsi réduite sinon éliminée, car ils ont alors le loisir de se familiariser avec les appareils et la conduite de l'épreuve.

II - ADMINISTRATION DE L'ACETYLCHOLINE.

Nous avons adopté la méthode dérivée de celle de Tiffeneau en raison de sa facilité d'éxécution, compte tenu du fait que nous devions pouvoir faire une mesure relativement rapide.

A - L'ACETYLCHOLINE

L'aérosol dispersé provient de la dispersion d'une solution d'acétylcholine.

Celle-ci peut être aqueuse ou glycolique.
On sait que l'acétylcholine subit une hydrolyse
- lente en milieu aqueux (1 h. 1/2 à 2 h.) (23-24)
- instantanée en milieu alcalin (25)
et que la solution dans un polyalcool assure la stabilité.

Dans la présentation choisie nommée acécoline, l'ACh est en solution dans le triéthylène glycol anhydre ($HO\ CH^2 - CH^2\ O - CH^2 - CH^2 - O\ CH^2 - CH^2\ OH$). *

Nous bénéficions d'une plus grande stabilité de la solution, ce qui était indispensable étant donné la durée de l'épreuve, parfois supérieure à 2 h. chez les sujets sains.

La solution glycolique d'ACh est miscible à l'eau en toutes proportions et procure sensiblement la même facilité de nettoyage des appareils que la solution aqueuse.

* - précision dont nous remercions les laboratoires Lematte et Boinot.

B - LE MATERIEL EMPLOYE

Est le même que celui employé par Tiffeneau. Il a été réglé d'après les normes du constructeur et comporte :

- 1 compresseur
- des générateurs d'aérosol
- 1 cloche de stockage
- 1 spiromètre de Cara modèle B2, Gauthier fabricant, 40, rue Poliveau, Paris 5°.

1/ Le compresseur a débit constant est utilisé à la pression de service de 800 g.

2/ Le générateur d'aérosol

Il a un débit gazeux de 20 litres/minute et un débit liquide de 0,2 ml/minute.

Donc, 1 l d'aérosol renferme 0,01 ml de solution dispersée.

Lorsque la solution d'ACh pulvérisée est au 1/100, 1 l d'aérosol renferme 100 microgrammes d'ACh. Les solutions employées étant :

- solution au 1/10 - contenu pur de l'ampoule
- solution au 1/100 - 1 cc d'ACh + 9 cc de sérum physiol.
- solution au 1/1000 - 1 cc de la solution au 1/100 + 9 cc de sérum physiologique.

On peut ainsi faire varier à volonté tant le volume d'aérosol inhalé que la concentration de la solution dispersée de façon à administrer des doses croîssantes d'ACh.

Pour réaliser ces aérosols nous disposons de différents générateurs pour les différentes concentrations, ceux-ci étant étalonnés à chaque fois, de façon à toujours obtenir le même débit pour chacun d'eux. Notre but principal étant de maintenir une constance des appareils de façon à apprécier les variations ventilatoires sans cause d'erreur.

Il y a des différences $\pm$ grandes entre générateurs. Pour tourner cette difficulté nous avons toujours utilisé le même générateur dans les mêmes conditions pour le même sujet.

Le diamètre des particules dispersées, indiqué par le constructeur est voisin du micron (entre 5 et 0,1) suivant la position de l'écran mobile.

De façon à obtenir des particules de diamètre constant, nous avons conservé cet écran en position moyenne pen-

dant toute la durée des expériences.

3/ La cloche de stockage
est d'une contenance de 15 l.
Le curseur mobile sur une règle graduée permet de lire directement la quantité inhalée.

Cette cloche a été purgée à chaque changement de concentration de la solution d'ACh.

4/ Le spiromètre enregistreur de Cara
Le sujet respire en circuit fermé ; l'appareil comporte une cloche de 8 litres remplie d'air et glissant dans un espace rempli d'eau qui isole l'air qu'elle contient de l'air extérieur.
Le sujet est relié à la cloche par une double tubulure de gros calibre, munie de soupapes de façon telle que le circuit de l'air inspiré et expiré se fasse toujours dans le même sens.
L'air expiré arrive à la cloche en passant par un bac de chaux sodée qui absorbe le gaz carbonique expiré et hydrolyse instantanément l'ACh. (l'aérosol se fixe sur les fragments de chaux sodée mécaniquement et chimiquement).
L'embout buccal est étanche et le nez est pincé.
Il existe un système d'inscription (kymographe) solidaire de la cloche qui permet d'enregistrer les mouvements de cette dernière à plusieurs vitesses.
Le problème de dépôt d'ACh dans les tuyaux a été soulevé.
Un asthmatique peut-il faire une crise - en dehors de toute inhalation d'ACh - après avoir respiré dans un appareil ayant servi antérieurement à une épreuve à l'acétylcholine ?
Le problème se pose théoriquement.
D'un point de vue pratique on peut remarquer qu'il ne peut subsister d'ACh dans la cloche car l'air est purifié auparavant par la chaux sodée, à condition bien sûr qu'elle soit renouvelée autant que nécessaire.
Un des sujets de notre série a fait une crise d'asthme au moment de l'épreuve, avec VEMS effondrée, éxécution de la CV impossible et sibilante.
Nous avons pu dans les dix minutes, sans aucune médication, avec les mêmes tuyaux et le même appareil, obtenir une normalisation de ces mêmes valeurs respiratoires appréciées sur des enregistrements antérieurs - ainsi que la disparition des sibilants.
L'épreuve à l'ACh, pratiquée immédiatement après, s'est déroulée de façon normale.

C - CONDUITE DE L'EPREUVE

1/ Inhalation systématique d'1 aérosol d'hexanium durant 5' de façon à diminuer l'action tussigène de l'ACh. (l'action broncho-constrictive de l'ACh n'est pas entravée par les méthoniums). (3)

Chez 3 sujets sains sur 8, fort tousseurs, on a dû en outre, avant chaque mesure, donner un antitussif plus puissant, le Silomat, administré suivant les sujets, soit par voie buccale 2 h. avant l'épreuve, soit IV 1/2 h. avant l'épreuve. (26)

2/ Enregistrement des courbes de référence de la VEMS et de la CV en répétant ces mesures de façon à recueillir la meilleure valeur.

3/ Inhalation de doses croîssantes d'ACh et mesure des VEMS et CV correspondantes jusqu'à obtention de l'effet seuil, calculé comme une diminution de 15 % de la VEMS de référence.

Dans les cas douteux où il s'agit de différencier l'effet acétylcholinique d'une mauvaise exécution, on recueille un nouveau tracé.

Si le doute n'est pas levé, on donne une dose supra-liminaire.

4/ Récupération sous aleudrine.
Inhalation pendant 5' d'un aérosol d'aleudrine et mesure 5' après des valeurs des CV et VEMS.

Il est à remarquer que dans la méthode originale de Tiffeneau que nous avons reprise, on ne tient compte pour la détermination du seuil à l'ACh que de la quantité brute d'aérosol inhalé.

D'autres auteurs, en particulier MAKINO (27), ont calculé indirectement à l'aide du rouge de phénol la quantité d'aérosol en principe fixée par le poumon de la façon suivante :
- mesure de la quantité de rouge de phénol contenu
  - dans l'aérosol inhalé
  - dans l'aérosol exhalé
- et calcul, d'après les chiffres obtenus par ces deux opérations, de la quantité d'ACh (ou d'histamine) déposée dans le poumon.

ANALYSE D'UN BIORYTHME PAR LA METHODE DU COSINOR

Le simple report des valeurs obtenues, ou de leur moyenne, en fonction du temps (chronogramme) est une méthode commode, mais très grossière pour caractériser un rythme et le décrire de façon objective.

C'est pourquoi Franz HALBERG et ses collaborateurs ont mis au point des programmes de calcul électronique qui ont radicalement transformé les possibilités d'analyse des biorythmes.

La variation périodique est assimilée à une sinusoïde de la forme $y = C_o + C \cos (\omega t + \Phi)$ où t est le temps, C_o le niveau de la fonction, C l'amplitude, ω la fréquence angulaire et Φ la phase.

Par approximation successive - en mettant en oeuvre la méthode des moindres carrés - on estime les différents paramètres de la fonction sinusoïdale qui diffère le moins de la série temporelle des valeurs expérimentales. Ces paramètres sont essentiellement la période τ, l'amplitude C, la phase Φ et le niveau ajusté du rythme C_o. Comme il s'agit de méthodes statistiques, chacune de ces moyennes estimées est accompagnée de ses limites de confiance pour une sécurité admissible : 95 %.

Dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placés, on peut admettre que les rythmes circadiens des sujets ont une période moyenne τ = 24 heures. La valeur de τ nous est donnée par la synchronisation des sujets. Nous sommes donc dans les conditions requises pour appliquer la méthode du cosinor qui nous fournira les valeurs de C, de C_o et de Φ .

On appelle acrophase le sommet circadien d'une variation physiologique rythmée ou plus exactement le som-

met de la sinusoïde qui sert à l'approximation du rythme.

Les résultats du présent travail ont été analysés par l'ordinateur électronique de l'Hôpital Saint-Lazare (Professeur J.J. BERNIER), suivant des programmes de calcul établis par MM. Ch. ABULKER et J. DUPONT.

RESULTATS

SUJETS SAINS

1 - Détection d'un rythme

Il y a détection d'un rythme circadien statistiquement significatif pour les 3 fonctions étudiées : VEMS, CV et seuil à l'ACh ($p < 0,05$) cf. tableau n° 4.

La représentation en coordonnées polaires planes (par la méthode du Cosinor) fig. n° 1 montre que l'ellipse d'erreur ne recouvre pas le pôle pour 95 % de sécurité en ce qui concerne la CV, pour 97,5 % en ce qui concerne la VEMS et pour 99 % en ce qui concerne le seuil à l'ACh (tableau 4)

2 - L'acrophase du seuil à l'ACh se situe à 14 h.45 (de 12 h.47 à 17 h.01). Dans nos conditions expérimentales elle précède en phase le Φ des deux autres fonctions. Cette différence n'est cependant pas statistiquement significative.

3 - L'amplitude du rythme du seuil à l'ACh est voisine de 30 % (11,8 à 48,3 %) du niveau ajusté du rythme (C_0 = 6.460 µg d'ACh). En d'autres termes le seuil à l'ACh est de 8.404 µg d'Ach (de 7.222 à 9.580) à l'acrophase et de 4,516 µg d'ACh (de 5.698 à 3.340) 12 heures plus tôt ou 12 heures plus tard.

a - L'amplitude du seuil est 10 fois plus importante que celles des VEMS et CV
b - Ses limites de confiance ne recouvrent pas celles des VEMS et CV. ce qui permet de dire qu'elle diffère de ces dernières de façon statistiquement significative. Le seuil à l'ACh ne semble donc pas dépendre de celui de la VEMS car l'amplitude du seuil à l'ACh est beaucoup plus importante que celle de la VEMS et ne peut donc en être déduite.

ASTHMATIQUES

1 - détection d'un rythme circadien statistiquement significatif pour la VEMS ($p < 0,025$) et le seuil à l'ACh ($p < 0,050$) cf. tableau n° 4.

Dans nos conditions d'étude la détection du rythme de la CV n'est pas significative ($p < 0,100$) bien que tout donne à penser qu'il existe. Mais cette mesure de la CV est de réalisation difficile et comporte beaucoup de "bruit".

2 - l'acrophase du seuil à l'ACh chez les sujets étudiés se situe à 13 h.36 (10 h.36 à 16 h.40) et précède chez les sujets sains celle de la VEMS.

3 - l'amplitude du seuil à l'ACh est voisine de 20 % (7,5 à 33 %) du niveau ajusté du rythme (C_o = 398 µg d'ACh). En d'autres termes le seuil à l'ACh est de 478 µg d'ACh (4.28 à 5.29) à l'acrophase et de 318 µg d'ACh (267 à 368) 12 heures plus tôt ou 12 heures plus tard.

- Elle est environ 4 fois plus grande que celle de la VEMS.
- Les limites de confiance pour le seuil à l'ACh et la VEMS ne se recouvrent que sur un faible intervalle (de 7,5 à 9,1).

Les amplitudes et les acrophases de ces rythmes ne diffèrent pas de manière statistiquement significative de celles des sujets sains.

La différence essentielle entre asthmatiques et sujets sains porte sur le C_o ou niveau moyen de la fonction exprimé en µg d'ACh $\pm$ 1 ES. Il est de 6.459 $\pm$ 1360 pour les sujets sains et de 398 $\pm$ 98 pour les sujets souffrant d'un asthme extrinsèque.

Le C_o est établi non pas à partir d'une mesure unique par sujet mais de 4 mesures par 24 heures ; de ce fait il est plus satisfaisant.

Les résultats obtenus viennent confirmer et préciser les observations de Tiffeneau : le seuil à l'ACh est abaissé chez l'asthmatique par rapport à celui du sujet témoin.

Lorsqu'on exprime l'amplitude des variations circadiennes du seuil à l'ACh en pourcentage du niveau moyen (C_0). on n'observe pas de différence statistiquement significative entre les sujets sains et les asthmatiques.

Au contraire, lorsque les variations d'amplitude sont exprimées en valeurs réelles, les oscillations paraissent faibles chez les asthmatiques et fortes chez les sujets sains. Il existe un effet une relation entre les valeurs de l'amplitude C et celles du niveau moyen C_0. C'est là une constatation maintenant classique en chronobiologie.

En conclusion si l'on compare les courbes des seuils à l'ACh

1 - En % de la moyenne des mesures de 24 heures
2 - en µg d'ACh inhalée au cours des mesures de 24 h. (fig. n° 2)

on s'aperçoit que dans le premier cas (à gauche) où l'on a ajusté les C_0 (ou niveau moyen de la fonction) pour les sujets sains et les asthmatiques, les variations de l'acrophase et de l'amplitude du seuil à l'ACh sont peu différentes dans les 2 groupes de sujets.

Nous venons de voir qu'en exprimant le niveau moyen et l'amplitude en µg d'ACh, l'allure des courbes est alors modifiée.

DISCUSSION.

Mise en évidence de nouveaux rythmes circadiens

On a pu mettre en évidence l'existence d'un rythme circadien pour le seuil à l'ACh et la VEMS aussi bien chez le sujet sain que chez l'asthmatique.

Ces résultats coïncident avec ceux de Reinberg, Gervais, Frambourg et Abulker qui avaient étudié le rythme de la CV, du DEP (Débit expiratoire de pointe) et de la température chez des sujets sains d'une part et des malades hospitalisés en milieu hypoallergique (asthmatiques et allergiques) (28)

Son intérêt théorique.

Elle s'intègre à un champ d'autres résultats déjà connus tels que les rythmes circadiens (29)
- des corticoïdes plasmatiques dont le Φ est à 9 h.40 (minimum à 21 h.40)

- d'excrétion des corticostéroïdes dont les Φ sont respectivement
  . pour les 17 OH vers 11 h.38 (minimum à 23 h.38)
  . pour les 17 céto vers 9 h.36 (minimum à 21 h.40)

- et enfin des catécolamines urinaires dont le Φ est vers 10 et 11 h. (Adrénaline et nor adrénaline urinaires) (minimum à 22 et 23 h.)

Toutes ces variations physiologiques cycliques jouent probablement un rôle dans la survenue de la crise d'asthme qui apparait le plus souvent vers 03 h.

En effet une variation circadienne pathologique, la crise d'asthme nocturne par exemple, peut résulter de plusieurs variations circadiennes physiologiques. La crise nocturne apparaît à un moment où les sécrétions de corticostéroïdes et d'adrénaline sont basses et où le seuil à l'ACh est au plus bas. D'autres rythmes circadiens seraient à prendre en considération.

Son intérêt pratique.

Etant donné qu'il existe des différences de 50 % pour les valeurs du seuil à l'ACh selon l'heure de la journée, il est indiqué pour étudier l'évolution de la maladie de pratiquer cet examen toujours à la même heure chez le même malade dont on connait la synchronisation circadienne.

En effet,si l'on prend en considération les rythmes circadiens et l'heure des mesures,la dispersion des résultats est réduite. Autrement dit les variations circadiennes ne sont plus assimilées à des variations dues au hasard ou à des erreurs de mesure.

Si au contraire on n'en tient pas compte,la dispersion est énorme,puisque chez le même sujet le seuil peut varier du simple au double.

Par ailleurs une étude en cours chez les sujets sains semblerait montrer des variations circannuelles non négligeables de ce seuil.

LEGENDE FIGURE I

Les différents paramètres de la sinusoïde qui diffère le moins des valeurs expérimentales (méthodes des moindres carrés) peuvent figurer sur une représentation en coordonnées polaires planes. Dans les conditions expérimentales observées, la période moyenne du rythme est de 24 h. (24 h. = 360° - 1 h. = 15°).

Les limites de confiance respectives de l'acrophase Ø (sommet circadien de la sinusoïde) et de l'amplitude C dessinent une ellipse d'erreur. Elle ne recouvre pas le pôle pour une sécurité de 99 % (détection du rythme : p 0,010). Elle est représentée pour une sécurité de 95 %. C est exprimé en p. cent de la moyenne des mesures faites au cours des 24 h. En prenant pour origine de phase minuit, on voit que Ø a pour valeur moyenne - 224° ou 14 h.54 (limites de confiance de - 192° à - 255°).

RYTHME CIRCADIEN HUMAIN DU SEUIL DE REPONSE BRONCHIQUE A L'ACETYLCHOLINE. 8 ADULTES SAINS ANALYSE PAR LA METHODE DU COSINOR (P<0,010)

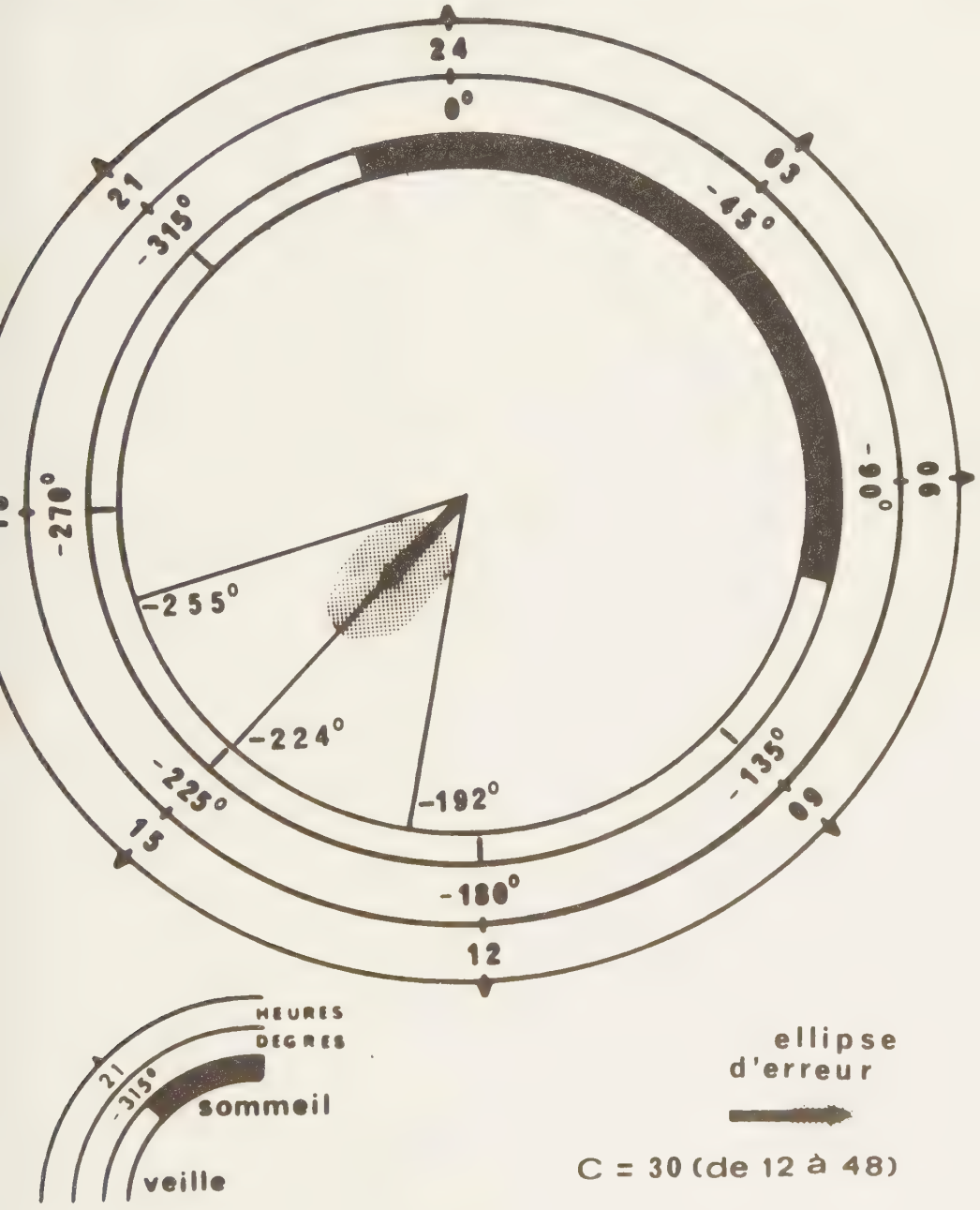

Fig. 1

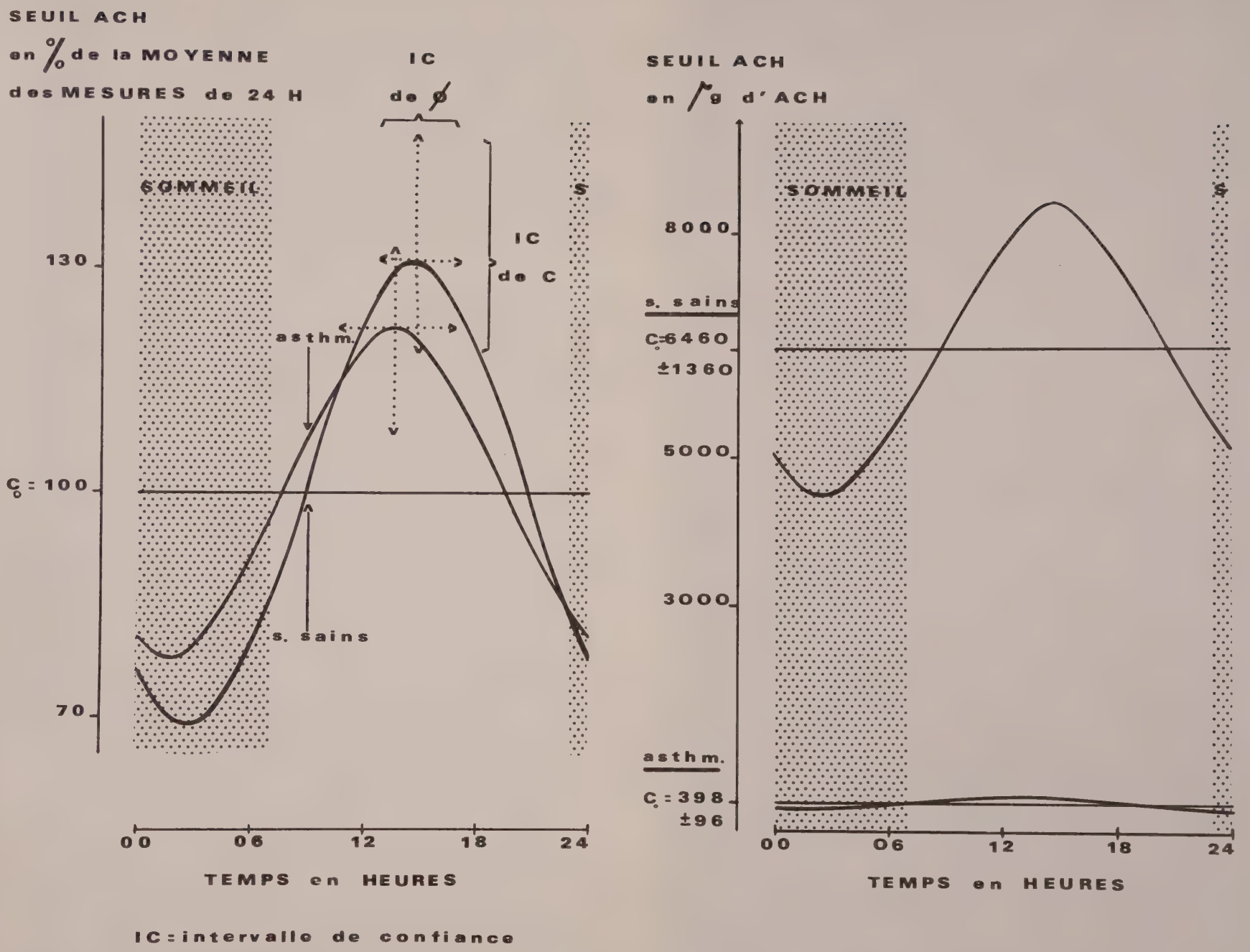
SEUIL ACH
en % de la MOYENNE
des MESURES de 24 H
IC
de Ø
SOMMEIL
S
IC
de C
130
asthm.
C° = 100
s. sains
70
00
06
12
18
24
TEMPS en HEURES
IC : intervalle de confiance
SEUIL ACH
en µg d'ACH
SOMMEIL
S
8000
s. sains
C°=6460
±1360
5000
3000
asthm.
C° = 398
±96
00
06
12
18
24
TEMPS en HEURES

FIG. N° 2

T A B L E A U N° 4

ACROPHASE Φ ET AMPLITUDE C DES RYTHMES CIRCADIENS DE FONCTIONS RESPIRATOIRES (VEMS ET CV) ET DU SEUIL A L'ACh CHEZ 8 SUJETS SAINS ET 6 PATIENTS SOUFFRANT D'ASTHME EXTRINSEQUE

ACTIVITE DIURNE DE 07 à 23 h ET REPOS NOCTURNE DE 23 à 07 h. ANALYSE PAR LA METHODE DU COSINOR

SUJETS	Fonctions physiologiques	Détection du rythme P	AMPLITUDE en % de la moyenne des mesures par 24 heures (limites de confiance pour une sécurité de 95 %)	ACROPHASE (SOMMET CIRCADIEN) en heures et minutes Référence de phase : minuit
8 Adultes sains	V.E.M.S.	< 0,025	3,7 (0,9 à 6,4)	15^{59} (de 12^{28} à 19^{30})
	C.V.	< 0,050	2,6 (0,3 à 4,9)	16^{28} (de 11^{28} à 21^{27})
	Seuil ACh	< 0,010	30,1 (11,8 à 48,3)	14^{54} (de 12^{47} à 17^{01})
6 asthmes	V.E.M.S.	< 0,025	5 (1 à 9,1)	15^{56} (de 11^{02} à 20^{49})
	C.V.	< 0,100	-	15^{00} -
	Seuil ACh	< 0,050	20,2 (7,5 à 33)	13^{36} (de 10^{36} à 16^{40})

CONCLUSIONS

Les recherches systématiques de F. HALBERG et collaborateurs chez la souris, de L. SCHEVING et collaborateurs chez le rat, et de A. REINBERG et collaborateurs chez l'homme, ont montré objectivement qu'il existait des variations périodiques et prévisibles de la sensibilité et de la susceptibilité des organismes vis à vis de substances chimiques (médicamenteuses ou non), d'agents physiques etc... Dans le domaine des rythmes circadiens, dont la période moyenne est d'environ 24 h., l'existence d'heures de moindre résistance de l'organisme a été mise en évidence pour de nombreux agents pharmacologiques. Le but des présentes recherches a été de vérifier ce fait pour l'acétylcholine (ACh), chez l'homme. Des rythmes circadiens de susceptibilité à l'ACh ont été mis en évidence, chez la souris in toto (Halberg) (5) et pour le coeur isolé du rat (Jackson). (7)

Tiffeneau a montré que le seuil de la sensibilité bronchique aux aérosols d'ACh pouvait être mesuré de façon relativement précise. Cette épreuve est largement utilisée pour explorer les fonctions respiratoires. Il est admis que, pour un sujet donné, le seuil à l'ACh est constant ou du moins qu'il varie peu. Mais l'étude systématique de l'épreuve au cours des 24 h. n'avait pas été faite. Ces recherches peuvent donc permettre de mieux connaître les limites des valeurs considérées comme normales pour le seuil à l'ACh.

Huit adultes sains (4 femmes de 28 à 47 ans et 4 hommes de 21 à 48 ans) ont été synchronisés de manière similaire pour permettre une étude de groupe :
pendant une semaine au moins avant chaque épreuve, ils se sont éveillés à 7 h. et couchés, pour dormir, à 23 h. Le seuil à l'ACh fut mesuré à heures fixes (08 - 15 - 19 et 23 h.), cinq fois pour chaque sujet. Un intervalle d'une semaine environ séparait chaque épreuve de la suivante. L'ordre de succession des épreuves a été modifié systématiquement d'un sujet à l'autre.

Chaque épreuve comprend la mesure de la VEMS (vitesse expiratoire maximum par seconde) et celle de la C.V. (capacité vitale). Puis on cherche la quantité liminaire d'un aérosol d'acétylcholine qui, inhalé par le sujet, provoque une chute de 15 % de la V.E.M.S.

Les séries temporelles de résultats ont été analysées par la méthode du cosinor. Elle permet
- par le calcul statistique inférentiel exécuté par un ordinateur - d'estimer divers paramètres qui caractérisent un biorythme : l'amplitude C, l'acrophase Φ et le niveau moyen C_0 . Φ correspond au sommet de la fonction sinusoïdale qui sert à l'approximation du rythme. Elle peut être exprimée en heure et minute avec, pour référence de phase, minuit. C'est exprimé en p. cent de la moyenne de l'ensemble des mesures couvrant 24 h. pour chaque sujet ; cette moyenne est très proche de C_0.

Il apparaît qu'un rythme circadien est détecté de manière statistiquement significative pour les 3 fonctions étudiées : V.E.M.S., C.V. et seuil ACh.
Dans les conditions expérimentales observées, l'acrophase de la sensibilité bronchique à l'ACh se situe à 14 h.54 (de 12 h.47 à 17 h.01), elle précède en phase le Φ des deux autres fonctions ; cette différence n'est cependant pas statistiquement significative. L'amplitude C du rythme de la sensibilité à l'ACh est voisine de 30 % et diffère de façon statistiquement significative des valeurs de C trouvées pour les deux autres fonctions. On peut en déduire que le rythme circadien de la sensibilité bronchique à l'ACh est indépendant de celui de la V.E.M.S.

Six sujets souffrant d'asthme (extrinsèque pour cinq d'entre eux) - 2 hommes de 27 et 35 ans, 4 femmes de 11 à 53 ans - ont été étudiés de manière similaire à celle des sujets sains, en particulier pour la synchronisation. Les résultats obtenus montrent qu'un rythme circadien du seuil à l'ACh et de la V.E.M.S. est détecté ; les amplitudes et les acrophases de ces rythmes ne diffèrent pas de manière statistiquement significative de celle des sujets sains.

La différence essentielle porte sur le C_0 ou niveau moyen de la fonction exprimé en µg d'ACh $\pm$ 1 ES. Il est de 6459 $\pm$ 1360 pour les sujets sains et de 398 $\pm$ 98 pour les sujets souffrant d'asthme extrinsèque, ce qui précise les constatations faites par Tiffeneau.

Vu, le Président de Thèse : Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur M. GAULTIER Professeur FOURNIER

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

1. TIFFENEAU R.

Hyperexcitabilité acétylcholinique du poumon. Critère physio pharmacolo-dynamique de la maladie asthmatique.
Presse Médicale 1955, 63 p. 227 - 230.

2. TIFFENEAU R.

Examen pulmonaire de l'asthmatique
Masson et Cie Editeurs p. 55 à 75

3. TIFFENEAU R.

Recherches pharmacodynamiques sur l'hypersensibilité cholinergique pulmonaire de l'asthmatique. Mesure, caractères, causes -
Semaine des Hôpitaux. Annales de la recherche Médicale 1957 - 33 p. 54 - 71.

4. HALBERG F.

Temporal coordination of physiologic function.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1960 25 p. 289 - 310.

5. JONES F., HAUS E., HALBERG F.

Murine circadian Susceptibility Resistance cycle to Acetylcholine.
Minnesota Acad of Science 1963, 31 p. 61 - 62.

6. SCHEVING L.E., VEDRAL D.F., PAULY J.E.

A circadian susceptibility rhythm in rats to pentobarbital sodium
Anat. Record. 1968. 160 p. 741 - 750.

7. SPOOR R.P., JACKSON D.B.,

Circadian rhythms : variation in sensitivity of isolated rat atria to acetylcholine.
Science 1966, 154 p. 782.

8. REINBERG A.

Hours of changing responsiveness and susceptibility
Perspect. Biol. Med. 1967, 11, p. 111 - 128

9. REINBERG A., HALBERG F.,

Circadian chronopharmacology
Ann. Rev. Pharmacol. 1971 (sous presse)

10. TIFFENEAU R. et DUNOYER P.

Action de la cortisone sur l'hypersensibilité cholinergique pulmonaire de l'asthmatique.
Presse Médicale 1956, 64 p. 719 - 721.

11. HALBERG F., TONG Y.L., JOHNSON E.A.

Circadian systemphase an aspect of temporal morphology in the Cellulars aspects of biorythms.
Symp. on rythmic research. 8 th Int. Congress Anat.
Springer. Berlin 1967 p. 20 - 48.

12. VANDEN DRIESSCHE Th.

Les rythmes circadiens chez les unicellulaires.
J. of Cycle Research 1970, 1, p. 24 - 42

13. BÜNNING E.

Die physiologische Urh
1er volume Springer Edit. Berlin. 1963.

14. REINBERG A. et GHATA J.

Les rythmes biologiques
P.U.F. (seconde édition) 128 p. 1964.

15. REINBERG A.

Evaluation of circadian dyschronism during transmeridian flights
Committee of Space Research. XIIth Planary Meeting Prague 1969. Life Sciences and Space Research VIII (sous presse).

16. REINBERG A.

Biorythmes et chronobiologie.
Presse Médicale 1969 - 77 p. 877 - 878.

17. HALBERG F.

Chronobiology
Ann. Review of physiology. 1969, 31 p. 675 - 725.

18. REINBERG A.

Perspectives of chronopharmacology, chronotoxicology and chronotherapeutic
Tiré à part JET 1969 n° 6 p. 319 - 320.

19. HALBERG F. et REINBERG A.

Rythmes circadiens de basses fréquences en physiologie humaine.
J. de physiologie (Paris) 1967, 59 p. 117 - 200.

20. REINBERG A., ZAGULA HALLY Z., GHATA J. and HALBERG F.

Circadian reactivity rythm of human skin to house dust, penicillin and histamine.
The Journal of allergy 1969 44 p. 292 - 306.

21. REINBERG A., ZAGULA HALLY Z.W., GHATA J. and HALBERG F.

Circadian Rythm in Duration of Salycilate Excretion Reffered to phase of excretory rythms and routine (31863).
Proc. of the Soc. for Experiment. Biol. and Med. 1967 124 p. 826 - 832.

22. REINBERG A., MD ph. D. and SIDI E., MD

Circadian changes in the inhibitory effects of an antihistaminic drug in man.
The Journal of investigate Dermatology copyright 1966 by The William and Wilking Co 46 p. 415-419.

23. HOFFMANN E.

Helv chim. Acta. 1930 13 p. 130

24. LEMATTE L., BOINOT G., KAHANE E.

Journal de Pharmacie et de chimie 1931 13 p. 371

25. VELHAGEN K.

Arch. exp. path. pharm. 1931 161 p. 697.

26. DUMON G., BROUILLET GABRIEL M.T., HEILLET G.

Essais thérapeutiques d'un nouvel antitussif injectable le KAT 256.
Presse Médicale 1964 41 p. 2.389 - 2.390 .

27. MAKINO S.

Clinical significance of bronchial sensitivity to acetylcholine and histamine in bronchial asthma
Journal of Allergy 1966 , 38 p. 127 - 142.

28. REINBERG A., GERVAIS P., FRAMBOURG J.C., HALBERG F., ABULKER Ch., VIGNAUD D., DUPONT J.

Rythmes circadiens des fonctions respiratoires et de la température d'asthmatiques séjournant en milieu hypo allergéniques.
La Presse Médicale 1970. 78 p. 1817 - 1821

29. REINBERG A., GHATA J., HALBERG F., GERVAIS P., ABULKER Ch.,DUPONT J. et GAUDEAU Cl.

Rythmes circadiens du pouls, de la pression artérielle, des excrétions urinaires en 17 OH et 17 Céto, catécolamines et potassium chez l'homme adulte sain, actif et au repos.
Annales d'endocrinologie, Paris 1970, 31 p. 277-287.